Typenbestimmung von Staphylococcus aureus aus Rinderherden mit hoher Mastitisfrequenz

Frank-Dieter Schultze

1967

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. KOTTER

TYPENBESTIMMUNG VON STAPHYLOCOCCUS AUREUS AUS RINDERHERDEN MIT HOHER MASTITISFREQUENZ

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Frank-Dieter Schultze
aus
Hildburghausen

München 1967

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. A. HERRLICH
Referent: Prof. Dr. L. KOTTER

Tag der Promotion: 27. Februar 1967

UNIV.
LEIDEN
INBL.

UNI-Druck, München 13, Amalienstraße 85

MEINEN ELTERN

UND

MEINER LIEBEN FRAU

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	1
II.	LITERATUR	2
A.	Die Staphylokokkenmastitis des Rindes	2
1.	Verbreitung	2
2.	Ätiologie und Epidemiologie	3
3.	Prognose und Therapie	5
B.	Differenzierung von Staphylococcus aureus	6
1.	Biochemische Methoden	6
2.	Antibiogrammbestimmung	9
3.	Serologische Methoden	9
C.	Die Lysotypie von Staphylococcus aureus-Stämmen	10
1.	Grundlagen der Lysotypie	10
2.	Differenzierung humaner Stämme	12
3.	Differenzierung boviner Stämme unter besonderer Berücksichtigung aus Milch isolierter Kulturen	13
D.	Staphylococcus aureus-Stämme als Lebensmittelvergifter	14
III.	EIGENE UNTERSUCHUNGEN	16
A.	Material und Methodik	16
1.	Entnahme, bakteriologische Untersuchung und indirekte Zellgehaltsbestimmung von Viertelgemelkproben beim Rind	16

Seite

2. Entnahme und bakteriologische Untersuchung von Abstrichen verschiedener Körperstellen des Rindes, von Melkbechern und Melkerhänden 17
3. Lysotypie der Staphylokokken 17
4. Zusätzliche biochemische Differenzierung 19
5. Antibiogrammbestimmung 19

B. Untersuchungen und Untersuchungsergebnisse 20
1. Übersicht über die bei den Herdenuntersuchungen in den Viertelgemelkproben nachgewiesenen Keime und die Ergebnisse des Schalm-Mastitis-Tests 20
2. Ergebnis der Typisierung der gesamten aus den Viertelgemelkproben isolierten Staphylokokkenstämme der drei Versuchsherden 21
3. Typisierungsergebnisse von Staphylokokken aus Abstrichen von Euter und Zitzenhaut 23
4. Typisierung von Staphylokokken aus Eutervierteln vor und nach der antibiotischen Behandlung mit Hilfe der Lysotypie, biochemischer Methoden und der Antibiogrammbestimmung 25

IV. DISKUSSION 30

V. ZUSAMMENFASSUNG 35

VI. LITERATURVERZEICHNIS 36

I. EINLEITUNG

Die Lysotypie der Staphylokokken hat in der Humanmedizin durch die Aufstellung eines international standardisierten Basissatzes Fortschritte in der epidemiologischen Forschung gebracht. Es konnte eine Vielzahl von Lysisbildern ermittelt werden, die im allgemeinen eine ausreichende Konstanz zeigten.

Auch in der Veterinärmedizin wurde die Lysotypie hauptsächlich im Zusammenhang mit der Staphylococcus aureus-Mastitis des Rindes durchgeführt. Der vorliegenden Arbeit lag die Absicht zu Grunde, die Konstanz der mit einem zur Testung boviner Stämme unseres Gebietes geeigneten Phagensatz ermittelten Lysisbilder zu überprüfen.

II. LITERATUR

A. DIE STAPHYLOKOKKENMASTITIS DES RINDES

1. Verbreitung

Als erste wiesen BANG und LUCET 1889 Staphylokokken als Erreger von Euterentzündungen des Rindes nach. Später wurden Staphylokokken auch von anderen Untersuchern als Mastitiserreger genannt, doch bezeichnete sie ERNST noch 1919 als seltene Mastitiserreger und stellte fest, daß das Rindereuter diesem Keim gegenüber eine außerordentliche Resistenz besitzt (zit. n. HEIDRICH u. RENK, 1963). WEBER (1937) bezeichnete die Staphylokokken als Mastitiserreger von untergeordneter Bedeutung. In der Folgezeit berichteten viele Untersucher über das häufige Vorkommen von Staphylokokkenmastitiden (KLASTRUP 1958; DAVIDSON 1961c und andere). OBIGER (1962) konnte dagegen keine Zunahme der Staphylokokkenmastitis beobachten, räumte allerdings ein, daß durch Veröffentlichungen in der Humanmedizin Anlaß zu genauerer Beschäftigung mit den Staphylokokken gegeben sei, die schon seit Jahren auf die Bedeutung der Staphylokokken hinweisen.

Nach Untersuchungen des Instituts für Tiergesundheit in Kiel stieg der Anteil der durch Staphylokokken hervorgerufenen Mastitiden in seinem Einzugsgebiet von 1954 bis 1958 von 0,8% auf 8% an (ECKERT 1959). Nach Untersuchungen des Tierhygienischen Instituts in Freiburg waren 1954 50% aller Mastitiden in seinem Einzugsgebiet durch Staphylokokken verursacht (BRODAUF 1964).

Als Ursache für diese Verbreitung der Staphylokokkenmastitis vermutete LIVONI (1956), daß die Mikroflora des Euters durch die weitverbreitete Anwendung von antibiotischen Präparaten aus dem Gleichgewicht gekommen ist, und als Folge der Vernichtung der Streptokokken eine starke Verbreitung der Staphylokokken stattgefunden hat. Dieser Ansicht widersprach WILSON (1957) mit dem Argument, daß in einzelnen Beständen durchaus Staphylokokken und Streptokokken gleichzeitig festgestellt werden könnten. Es ist daher zu klären, ob eine Zunahme der Pathogenität der Staphylo-

kokken der Grund für die ansteigende Verbreitung der durch sie hervorgerufenen Mastitis ist.

2. Ätiologie und Epidemiologie

STECK (1930) zählte die Staphylokokken zur normalen Euterflora. Dem widersprach OBIGER (1962), der, da Staphylokokken relativ selten gefunden würden, sie nicht als ständige Bewohner des Euters genannt wissen will. Nach WIIDIK (1954) gibt es Kühe, die über Jahre hinaus pathogene Staphylokokken reaktionslos in der Mamma beherbergen und mit der Milch ausscheiden. SEELEMANN (1951) hat die Staphylokokkenmastitis selten beobachtet, er beschrieb sie als Krankheit von harmlosem Verlauf, die öfters zur Selbstheilung führt. KÄSTLI und BINZ (1948) erkannten den Staphylokokken eine geringere Bedeutung als Mastitiserreger zu als den Streptokokken und sprachen ebenfalls von einer Tendenz zur spontanen Selbstausheilung. Klinisch bleibt nach ihren Angaben der Infekt auf die Euterzisterne beschränkt. DAVIDSON (1961a) stellte fest, daß die Staphylokokken auf der intakten Haut leben und sich vermehren können, wobei besondere Körperstellen bevorzugt werden. KLASTRUP (1958) erklärte, daß die Staphylokokken nicht unbedingt in jeder Herde als ubiquitäre Keime zu gelten haben. Als Infektquelle sind bereits infizierte Tiere anzusehen. Nach NAI (1957) erfolgt die Übertragung der Staphylokokken fast ausschließlich durch das Melkpersonal. Eingeschleppt werden die Keime bei Melkerwechsel oder beim Zukauf bereits infizierter Tiere. Meist sind mehrere Tiere einer Herde erkrankt, wobei größtenteils nur ein bis zwei Euterviertel einer Kuh befallen sind. RENK (1961) bezeichnete den Zitzenkanal als Infektionsweg, deshalb ist sorgfältiges Melken zur Vermeidung von Zitzentraumen besonders wichtig.

Über die Epidemiologie der Staphylokokkenmastitis liegen wenig Arbeiten vor. DAVIDSON (1961c) stellte bei seinen Untersuchungen fest, daß ein Staphylokokkenstamm, der sich längere Zeit in einer Herde halten kann, früher oder später eine Mastitis hervorruft. Euter- und Zitzenhaut sind nach seinen Angaben die bevorzugten Brutstätten der Staphylokokken, an anderen Körperstellen stellte er Staphylokokken seltener fest. Dies stimmt mit den Untersuchungsergebnissen von SPENCER und LASMANIS (1952) überein, die ebenfalls auf der Euterhaut die stärkste Staphylokokkenbesiedlung fanden. DAVIDSON (1961c) beobachtete, daß die Staphylokokken sich erst eine geraume Weile in einer Herde aufhalten, bevor es zu einer Mastitis kommt.

Es könnte sich hierbei um eine Anpassungszeit handeln, oder es muß erst, wie DAVIDSON (1961c) bei den Staphylokokkeninfektionen an anderen Körperstellen nachweisen konnte, auf dem Euter eine genügend starke Staphylokokkenbesiedlung vorhanden sein, bevor es zu einer Infektion kommt. Hierbei dürfte die Virulenz der Keime und die Reaktionslage des betreffenden Euters eine ausschlaggebende Rolle spielen. Noch durch ein anderes Beispiel beweist DAVIDSON (1961c), daß das Euter als primäre Brutstätte der Staphylokokken zu gelten hat: Bei den Färsen seiner Versuchsherde wurden keine Staphylokokken festgestellt, hier war die Infektkette unterbrochen, da die Färsen nicht über die Melkmaschine oder die Hände des Melkpersonals in Kontakt mit den Eutern anderer Tiere gekommen waren. Auch SCHALM und WOODS (1953) kamen zu der Ansicht, daß das Euter selbst die Quelle der Euterinfektionen mit Staphylokokken ist. Erst wenn hier ein genügend starkes Keimangebot vorliegt, kommt es zur Ausbreitung auf andere Körperstellen und zur Mastitis. DAVIDSON (1961c) berichtete über jahreszeitliche Schwankungen des Keimangebotes auf der Euterhaut. So zeigte sich die stärkste Staphylokokkenausbreitung in den Monaten September bis Oktober, im Spätherbst und Winter blieb dieses starke Keimangebot bestehen und ging im Frühjahr und Sommer allmählich zurück. Die gleichen Schwankungen zeigten sich auch an den anderen Körperstellen, doch traten sie hier immer etwas später auf als am Euter. Da eine Ausrottung der Keime mit den heutigen Mitteln nicht möglich ist, sollte durch geeignete hygienische Maßnahmen das Keimangebot in der Umgebung des Euters gering gehalten werden, und so die Infektkette unterbrochen werden. Menschen scheinen als Infektionsquelle keine große Rolle zu spielen; wahrscheinlich kommt es erst bei einem sehr starken Keimangebot zu einer Infektion mit Staphylokokken humaner Herkunft.

Die Staphylokokkenmastitis tritt nach THÖRNE (1958) meist als chronisch-katarrhalische Galaktophoritis und Mastitis mit unsicheren klinischen Symptomen auf. Hierbei ist das Drüsengewebe verhärtet, das Euterviertel im ganzen verkleinert. Im histologischen Schnitt sieht man neben atrophierten inaktiven Drüsenläppchen kleine akute Entzündungsherde. Nach HEIDRICH und RENK (1963) kann die Staphylokokkenmastitis noch als akute katarrhalische Entzündung mit Sekretveränderung, bzw. als akut-bösartige Mastitis auftreten. Im letzten Fall ist die Euterhaut gespannt und gerötet, das gesamte Euterviertel ist stark vergrößert. Die Schnittfläche zeigt neben nekrotischen Partien hyperämisierte Gebiete in Parenchym und Interstitium.

3. Prognose und Therapie

Die Staphylokokkenmastitis hat eine ungünstige Prognose. PLATANOW und BLOBEL (1963) behandelten eine Anzahl von Kühen, die an Staphylokokkenmastitis erkrankt waren, mit hohen Dosen Penicillin. Nach einer Serie von fünf Behandlungen war noch die Hälfte der Euter infiziert, obwohl die Staphylokokken in vitro Penicillin gegenüber sensibel waren. Diesen Mißerfolg führten die Untersucher auf bindegewebige Neubildungen zurück, die als Schutzwall die Staphylokokken im Gewebe umgeben, so daß sie von den intramammär gegebenen Mitteln nicht in therapeutisch ausreichender Dosis erreicht werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch DRURY und SAN CLEMENTE (1962). UNTERMANN (1964) hatte nur bei den Mastitiden therapeutischen Erfolg, die nicht länger als zwei bis vier Monate bestanden. Demnach ist die Prognose günstiger, wenn die Erkrankung frühzeitig erkannt und behandelt wird.

In einzelnen Fällen dürfte der Grund für die therapeutischen Mißerfolge die Resistenz der Staphylokokken gegenüber Antibiotika sein. Wie die Untersuchungen von BESETH (1963), REHDER (1959) und GEDEK, DUNKEL und KOTTER (1964) zeigten, ist diese Resistenz in den verschiedenen Herden sehr unterschiedlich. Nach Ansicht von REHDER (1959) spielt jedoch die Antibiotikaresistenz der Staphylokokken in der Tiermedizin im Vergleich zur Humanmedizin noch eine untergeordnete Rolle.

Wegen der geringen therapeutischen Erfolge mit intramammär verabreichten antibiotischen Mitteln suchte man nach neuen Bekämpfungsmethoden. Gewisse Erfolge wurden durch die aktive Immunisierung mit Staphylococcus aureus-Toxoid erzielt. Dies gilt vor allem für akute Mastitiden (RICHOU und THIEULIN 1955; SLANETZ und Mitarbeiter 1959). UNTERMANN (1964) sah keine Erfolge mit dieser Methode. BLOBEL und BERMAN (1963) berichteten, daß vakzinierte Kühe eine höhere Resistenz dem homologen Staphylokokkenstamm gegenüber hatten, und daß Schwere und Vorkommen klinisch erkennbarer Mastitiden auch bei Infektionen mit heterologen Staphylokokken erheblich herabgesetzt waren.

B. DIFFERENZIERUNG VON STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Als Differenzierungsmethoden der Staphylokokken werden in neuerer Zeit das Antibiogramm, serologische Methoden und die Lysotypie verwendet. Von den biochemischen Unterscheidungsmethoden, die hauptsächlich als Pathogenitätstest entwickelt wurden, und deren Variabilität früh erkannt wurde, eignet sich nur ein kleiner Teil für die Einteilung der Staphylokokken in einzelne Typen.

1. Biochemische Methoden

Die Pigmentbildung wurde lange Zeit als wichtigstes Merkmal für die Einteilung der Staphylokokken gewertet. Dies muß heute als unberechtigt angesehen werden, weil die Pigmentbildung von Faktoren wie Nährbodenzusammensetzung, Temperatur, Lichtzutritt und anderen abhängt. Nach STEUER (1957) handelt es sich bei dem Pigment um ein Zeaxanthin, das eine Schutzfunktion gegen die bakteriziden UV-Strahlen ausüben soll. Zur Typisierung von Staphylokokken und als Pathogenitätsmerkmal ist diese Methode nicht geeignet, wie Untersuchungen von GRÜN (1964) ergaben.

MUCH (1908) beobachtete, daß diejenigen Staphylokokken, die im beimpften Blutplasma nach Bebrütung eine Gerinnung hervorriefen, schon nach dem Einreiben in das Plasma verklumpten. BIRCH-HIRSCHFELD (1934) erkannte darin eine Differenzierungsmethode für Staphylokokken, die als Plasmaagglutination bezeichnet wurde. Über den Wirkungsmechanismus dieser Reaktion bestehen auch heute noch verschiedene Auffassungen. Diese Methode hat sich als Pathogenitätstest gut bewährt, eignet sich aber wegen der guten Übereinstimmung mit der Koagulasereaktion nur mit Einschränkung zur Differenzierung von Staphylococcus aureus.

Die Eigelbreaktion wird auf einen der Fettspaltung ähnlichen Vorgang zurückgeführt. Die Bedeutung der Reaktion im Infektgeschehen ist bisher ungeklärt. Zusammenhänge zwischen Pathogenität und Lipasereaktion bestehen nach Ansic von GRÜN und PULVERER (1960) nicht. Mit Hilfe der Eigelbreaktion können die Staphylokokken in große Gruppen eingeteilt werden. Aus diesem Grund und wegen ihrer Konstanz ist sie eine wertvolle Methode zur Typisierung von Staphylokokken bei epidemiologischen Untersuchungen.

Nach FREDERICQ (1960) wird die Fibrinolyse der Staphylokokken durch Trypsinogen und eine von den Staphylokokken gebildete Kinase hervorgerufen. Für die Tiermedizin ist diese Methode praktisch ohne Bedeutung, weil, wie die Untersuchungen von ROUNTREE (1947) und CHRISTIE und WILSON (1941) ergaben, die tierpathogenen Staphylokokken, die fast ausschließlich β-Toxinbildner sind, keine Fibrinolyse zeigen!

Die Gelatinasereaktion dient ebenfalls zur Unterscheidung der Staphylokokkenstämme und ist für epidemiologische Untersuchungen verwendbar. KRYNSKI, KEDZIA, BECLA und KRASOWSKI (1962) sahen in ihr ein Zeichen der Virulenz. Während die Untersuchung der meisten Zuckerarten keine brauchbaren Ergebnisse für die Beurteilung der Staphylokokken ergab (GRÜN 1964), findet das Mannit, ein zuckerartiger sechswertiger Alkohol, Anwendung in Selektivnährböden. Die Mannitfermentierung findet man sowohl bei pathogenen als auch bei einigen apathogenen Staphylokokken. Verschiedene Untersucher kamen zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen mit dieser Methode. GRÜN (1964) führte diese Differenzen auf eine unterschiedlich lange Bebrütungszeit zurück. Nur sehr vereinzelt kommen mannitnegative koagulasepositive Staphylokokken vor. Deshalb ist diese Methode für die Typisierung von Staphylokokken nicht geeignet.

BARBER, BROOKSBANK und KUPER (1951) fanden in der Phosphatase eine brauchbare Parallele zur Plasmakoagulase. Doch ergaben Untersuchungen von KAFFKA (1957), daß auch unter den koagulasenegativen Stämmen phosphatasepositive sind. PAKULA und Mitarbeiter (1953) stellten fest, daß bei einem geringen Teil der koagulasepositiven Stämme die Phosphatase fehlt. Für eine Einteilung des Staphylococcus aureus ist jedoch der Anteil der koagulasepositiven phosphatasenegativen Stämme zu gering.

Bei der Hyaluronidase handelt es sich wahrscheinlich um einen Fermentkomplex, der durch Abbau der Mucopolysaccharide die Viskosität herabzusetzen und die Permeabilität zu erhöhen vermag. Hierdurch wird ein schnelleres Vordringen der Bakterien oder ihrer Toxine ermöglicht. SCHMIDT (1956) hat die Hyaluronidase nur bei pathogenen Staphylokokkenstämmen gefunden. KAFFKA (1957) fand die Hyaluronidase auch bei einigen apathogenen Stämmen. Zur Typisierung der Staphylokokken ist diese Methode nicht geeignet.

Die Harnstoffspaltung eignet sich ebenfalls wenig zur Einteilung der Staphylokokken in einzelne Typen, weil einige Untersucher zu recht verschiede-

nen Ergebnissen kamen (WOHLFEIL und WEILAND 1937; RÖMER und SCHMITZ 1951). Zudem finden sich nach GRÜN (1964) unter den Staphylokokken nur schwache Harnstoffspalter.

Der Kristallviolett-Test beruht auf der Eigenschaft verschiedener Staphylokokkenstämme, auf kristallvioletthaltigen Agarplatten in unterschiedlicher Stärke zu wachsen und verschiedenes Pigment zu bilden. Nach der Nomenklatur von EPSTEIN (1934) gelten als KV-positiv alle gelb und weiß gefärbten Kolonien, als KV-negativ alle violetten und blauvioletten Kolonien. CHAPMAN und BERENS (1941) bezeichneten diese Stämme analog als "yellow strains" und "violet strains". KLASTRUP (1955) bezeichnete in seiner Nomenklatur die gelb bzw. gelbviolett wachsenden Stämme als Typ A bzw. als Typ B. Die weiß wachsenden Stämme bezeichnete er als Typ E. Diese biochemische Reaktion ist ein guter zusätzlicher Test für die Differenzierung von Staphylokokkenstämmen mit Hilfe der Serologie und der Lysotypie. Die Staphylokokken lassen sich hierbei in verschiedene Typen einteilen, die Konstanz der Reaktion ist in genügendem Maße gegeben.

Früher wurde die Hämolyse als charakteristisches Pathogenitätsmerkmal angesehen. Neuere Untersuchungen ergaben jedoch, daß es sich hierbei um ein recht komplexes Phänomen handelt, das abhängig ist von dem Vorhandensein spezifischer und unspezifischer Lysine und Antilysine, sowie von den sehr variablen Bedingungen der Nachweistechnik. Von praktischer Bedeutung ist der Nachweis des α-, β- und δ-Lysins (ELEK und LEVY 1950). Zwischen diesen drei Hämolysinen sind sieben Kombinationen möglich. Darüber hinaus wurden keine ungehemmten Lysine bei humanen oder animalen Stämmen gefunden. Wegen ihrer Variabilität eignet sich diese Methode nicht zur Einteilung der Staphylokokken in verschiedene Typen.

MOORE (1960) teilte kürzlich mit, daß Staphylokokken mit den Lysisbildern der verbreitetsten Hospitalstämme eine wesentlich stärkere Resistenz gegen Quecksilberchlorid aufweisen als andere Staphylokokken. Diese Beobachtung könnte in der epidemiologischen Praxis nutzbar gemacht werden. Aus dem Bereich der Tiermedizin liegen noch keine Arbeiten zur Untersuchung dieses Phänomens vor.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Eigelbreaktion, die Gelatinase und der Kristallviolett-Test diejenigen der biochemischen Reaktionen sind, die sich am besten für die Einteilung der Staphylokokken in einzelne

Typen eignen. Die übrigen Methoden sind entweder in der Tiermedizin nicht anwendbar, erfordern einen zu großen Zeit- und Arbeitsaufwand oder dienen nur zur Feststellung der Pathogenität.

2. Antibiogrammbestimmung

Die Antibiotikaresistenz der Staphylokokken ist eine weitere Unterscheidungsmöglichkeit. Sie ist in der Humanmedizin sehr bedeutungsvoll, für die Tiermedizin besitzt sie weniger Gewicht, weil, wie die Untersuchungen von REHDER (1959) und anderen zeigten, die Antibiotikaresistenz unter den Staphylokokkenstämmen bovinen Ursprungs nicht sehr verbreitet ist. MEYER (1962) bemängelte als Hauptnachteil des Antibiogramms, daß sich damit zu wenig Typen bestimmen lassen. CRONE-MÜNZEBROCK und KORTH (1957) bemerkten, daß verschiedene Institute bei gleichen Stämmen zu verschiedenen Ergebnissen kamen. Sie forderten eine Standardisierung der Methode.

3. Serologische Methode

Die serologische Bestimmung der Staphylokokken stieß zunächst auf große Schwierigkeiten. Präzipitation und Komplementbindung stellten sich als ungeeignet heraus. Bessere Ergebnisse erhielt man mit der Agglutination. COWAN (1939) führte die erste erfolgreiche Objektträgeragglutination durch. Es gelang ihm, 70% der getesteten koagulasepositiven Staphylokokken in drei Haupttypen einzuteilen. OEDING und AUSTARHEIM (1954) fanden, daß die vier häufigsten Gruppen der Antigenfaktoren a, b, c, e; a, b, c; a, b, e und a, b 80% aller pyogenen Staphylokokkenstämme umfaßten. Nach GRÜN (1957) genügt in der Routinepraxis die Feststellung der Antigenfaktoren a, b, c, und e.

PILLET (1954) glaubte, daß die Ergebnisse der Serologie und der Lysotypie auf dem Vorhandensein gleicher Rezeptoren bei den Staphylokokken beruht. OEDING und WILLIAMS (1958) kamen jedoch auf Grund vergleichender Untersuchungen zu dem Ergebnis, daß es sich um verschiedene Rezeptoren handeln müsse.

GRÜN (1957) betrachtete das Antibiogramm als wichtigstes zusätzliches Differenzierungsmittel bei der Serodiagnostik der Staphylokokken.

Der Wert der serologischen Typenbestimmung wird unterschiedlich beurteilt. Manche Autoren bezeichnen sie als zu aufwendig für die Lösung praktischer epidemiologischer Fragen. PEREIRA (1960) hielt die bisherigen serologischen Methoden noch nicht für zuverlässig genug, er forderte eine Standardisierung des Materials und schlug die Überprüfung der Sera an einer Grundgruppe von 23 Staphylokokkenstämmen vor. OEDING und WILLIAMS (1958) sahen den Vorteil der serologischen Differenzierung der Staphylokokken darin, daß wenige Stämme untypisierbar bleiben. Als Nachteil betrachteten sie die geringe Anzahl der Typen, wodurch eventuell Stämme als Epidemiestämme angesehen werden, die nicht mit der Erkrankung in Zusammenhang stehen.

Interessant und für epidemiologische Untersuchungen bedeutsam ist die Frage, ob zwischen den gebräuchlichsten Differenzierungsmethoden, wie der Serologie und der Lysotypie, Zusammenhänge bestehen. BLAIR und CARR (1953) fanden, daß die drei Serotypen nach COWAN recht gut mit den ersten drei Phaggruppen übereinstimmen. Ähnliche Beziehungen wurden auch zu den Serotypen nach OEDING festgestellt. Ein Großteil der inagglutinablen Staphylokokkenstämme zeigte sich auch resistent gegen die Phagen des Basissatzes. Besonders enge Beziehungen bestehen zwischen den Phaggruppen III und I/III und dem Serotyp abc. Eine völlige Übereinstimmung der beiden Systeme besteht jedoch nicht, denn GRÜN und PULVERER (1960) gelang es mehrfach, Staphylokokken eines Phagentypes serologisch weiter zu unterteilen.

Die Serologie ist neben der Lysotypie wohl die beste Differenzierungsmethode für Staphylococcus aureus-Stämme, doch wird wegen des hohen Arbeitsaufwandes nur immer eine der Methoden angewandt.

C. DIE LYSOTYPIE VON STAPHYLOCOCCUS AUREUS-STÄMMEN

1. Grundlagen der Lysotypie

Unter Lysotypie verstehen wir die Typisierung von Bakterien durch Viren, die sich in ihrer Lebensweise völlig an bestimmte Bakterien adaptiert haben und deshalb als Bakteriophagen, kurz Phagen, bezeichnet werden. Die

meisten koagulasepositiven Staphylokokken sind Träger latenter Phagen, die sich durch geeignete Methoden gewinnen und anreichern lassen (MEYER 1962). Die Phagen vermögen bestimmte Staphylokokkenstämme zur Lysis zu bringen. Die Typenbestimmung von Bakterien durch Phagen ist einmal durch den Nachweis der latenten Phagen möglich. WILLIAMS und ANDERSON (1955) hielten ihren praktischen Nachweis jedoch für zu schwierig. KARSKA und Mitarbeiter (1960) schlugen den Nachweis der latenten Phagen als Ergänzung zur Prüfung der Bakterien auf ihre Typisierbarkeit durch Testphagen vor.
Allgemein bewährt hat sich die Prüfung der Staphylokokken mit Hilfe von Typisierphagen. Heute hat sich das Typisierschema von BLAIR und WILLIAMS (1961) durchgesetzt, es bildet die Grundlage der Methodik nach den Vorschriften des Subcommittee on Phage Typing of Staphylococcus.

Wie aus Arbeiten von ROUNTREE (1949) und anderen hervorging, gibt es Phagen mit hoher und geringer Wirtsspezifität. Für die Lysotypie eignen sich nur Phagen mit hoher Wirtsspezifität. Die Auswahl wird so getroffen, daß die Spezifität für die Routine ausreicht. Um Fehlergebnisse durch Mutation oder Modifikation der Phagen auszuschließen, ist eine regelmäßige Kontrolle der Phagen notwendig. Sie erfolgt in praxi an einer Reihe von Teststämmen, das Reaktionsbild wird als Lysisspektrum bezeichnet.

Zur Frage der Konstanz der Lysisbilder zeigten MEYER und RISCHE (1960) an Beispielen aus der Epidemiologie, daß die Variabilität der Staphylokokkenstämme nicht unterschätzt werden darf. SMITH (1948) bewies, daß erworbene Lysisresistenz für die Reaktion vieler Stämme, die als different angesehen werden, verantwortlich ist. LOWBURY und HOOD (1953) zeigten, daß Staphylokokken, die von einer Reihe von Phagen gelöst werden, unter dem Einfluß eines Phagen gegen andere resistent, ja sogar untypisierbar werden können. Nach WAHL und FOUACE (1954) ist die Umwandlung von Lysisbildern durch den Verlust des Prophagen und durch Lysogenisation möglich. Die Lysogenisation kann teils zum Verlust, teils zum Gewinn von Phagenreaktionen führen.

Trotz der Möglichkeit der Variabilität der Lysisbilder hat sich die Lysotypie der Staphylokokken in der epidemiologischen Praxis bewährt.

2. Differenzierung humaner Stämme

FISK (1942) schuf die Grundlagen der Staphylokokkenlysotypie. Durch sein Kreuzkulturverfahren, das auf der Wechselwirkung zwischen einem Basalstamm und aufgetropften Stämmen beruht, gelang ihm eine systematische Gewinnung von Phagen, die er mit Hilfe quaternärer Ammoniumbasen von den Stämmen trennte.

WILSON und ATKINSON (1945) nahmen die Trennung durch Ultrafiltration vor. Sie arbeiteten das erste brauchbare Typisierschema aus und führten den Begriff der kritischen Testkonzentration (RTD - routine test dilution) in die Lysotypie ein.

WILLIAMS und RIPPON (1952) entwickelten diese Methoden weiter. Die Originalphagen wurden von ihnen fortlaufend numeriert, während angepaßte Phagen außer mit der Nummer noch mit einem Buchstaben gekennzeichnet wurden. Neuerdings erhalten auch angepaßte Phagen nur eine Nummer. Durch umfangreiche statistische Untersuchungen stellten die gleichen Autoren fest, daß manche Phagenreaktionen so gut wie nie mit bestimmten anderen vergesellschaftet sind, andere dagegen häufig. Diese Feststellung führte zur Einteilung in Gruppen, die mit römischen Zahlen bezeichnet werden.

LEVY, RIPPON und WILLIAMS (1953) bezeichneten Stämme, die bei der Prüfung mit der RTD resistent erscheinen, als partiell typisierbar. Tritt bei der Prüfung mit konzentrierteren Phagenpräparationen keine Reaktion auf, so gelten diese Stämme als völlig untypisierbar. Stämme, die sich mit den Phagen des Basissatzes nicht typisieren lassen, sollten mit "additional phages" untersucht werden.

Für die Beurteilung der Ergebnisse stellten WILLIAMS und RIPPON (1952) die Faustregel auf, daß Staphylokokkenstämme als verschieden gelten, wenn sie sich in zwei oder mehreren starken Phagenreaktionen voneinander unterscheiden.

Nach ORTEL (1957) genügt schon eine starke Phagenreaktion zur Unterscheidung, wenn bei den Stämmen eine unterschiedliche Antibiotikaresistenz vorliegt. Im Gegensatz zu WILSON und ATKINSON (1945), die bei der Beurteilung nur tsarke Phagenreaktionen bewerteten, schlugen RUYS und BORST

(1953) eine neue Protokollierung vor. Sie berücksichtigten auch schwache und sehr schwache Phagenreaktionen und untersuchten Stämme, die mehrere starke Phagenreaktionen zeigten mit 1/10 bzw. 1/100 RTD.

3. Differenzierung boviner Stämme unter besonderer Berücksichtigung aus Milch isolierter Kulturen

Eine Reihe von Untersuchern testeten mit Hilfe der Lysotypie Staphylokokken boviner Herkunft. BARNUM und FULLER (1956) gelang es, 81,2% ihrer untersuchten Stämme zu typisieren. Sie konnten die getesteten Staphylokokkenstämme in fünf Gruppen einteilen.

EDWARDS und RIPPON (1957) stellten bei ihren Untersuchungen fest, daß einzelne Phagen besonders oft reagierten. So zeigten 77% ihrer Stämme eine Reaktion mit dem Phagen 42D und 71% mit dem Phagen 52B.

PAPAVASSILIOU und OBIGER (1959) isolierten in Schleswig-Holstein aus Einzel- und Kannenmilchproben 110 koagulasepositive Staphylokokkenstämme. 76% dieser Stämme waren typisierbar, die Phagentypen 77 und 42D herrschten vor.

DAVIDSON (1961c) züchtete seine Staphylokokkenstämme nicht nur aus der Milch, sondern auch aus Abstrichen von verschiedenen Stellen der Haut und von den Körperöffnungen. Er änderte den Phagensatz so, daß er Phagen des Internationalen Standardsatzes, die sich nicht für seine Untersuchungen eigneten, aussortierte und durch selbst isolierte Phagen ersetzte. Er stellte für seine Phagen ein Lysisspektrum auf.

WILLIAM SMITH (1948) untersuchte, ob in einem Euterviertel mehr als ein Staphylokokkenstamm anzutreffen sei. Dabei fand er bei 22 seiner 26 untersuchten Euterviertel nur einen Phagentyp. Die restlichen vier Euterviertel enthielten zwei Phagentypen.

PRICE, NEAVE, RIPPON und WILLIAMS (1954) untersuchten in England aus Milch isolierte Staphylokokken. Es gelang ihnen, sämtliche isolierten Stämme auf zwölf charakteristische Phagenbilder zurückzuführen. Die Autoren untersuchten Milchproben aus mehreren Herden, in jeder Herde wurden stets zwei oder mehrere Phagentypen festgestellt. Bei Kühen, die an zwei Euter-

vierteln erkrankt waren, wurde nur in der Hälfte der Fälle in beiden Eutervierteln der gleiche Staphylokokkenstamm gefunden.

PULVERER (1965) testete mit dem Internationalen Basissatz, der durch Zusatzphagen erweitert war, Staphylokokken boviner Herkunft. Er stellte fest, daß die meisten Stämme mit den Phagen der Gruppe IV reagierten. Für epidemiologische Untersuchungen der bovinen Staphylokokken ist der Internationale Basissatz nach seiner Ansicht nicht geeignet. Ebenfalls mit dem Internationalen Basissatz arbeiteten NAKAGAWA (1960), LOKEN und HOYT (1962), EDWARDS und RIPPON (1957). Aus ihren Ergebnissen muß ebenfalls geschlossen werden, daß der Internationale Basissatz für die Differenzierung boviner Staphylokokken nicht geeignet ist. GEDEK (1966) stellte einen Phagensatz zur Differenzierung boviner Staphylokokken auf. Er verwendete Phagen des Internationalen Basissatzes, Zusatzphagen und Phagen, die von DAVIDSON (1961b) isoliert worden waren.

Als Differenzierungsmethode hat sich die Lysotypie der Staphylokokken sowohl in der Humanmedizin als auch in der Tiermedizin bewährt. Sie verlangt als Methode ein sehr genaues Arbeiten, die Reinheit der Testphagen muß ständig überprüft werden, die Phagenlösungen müssen auf einen bestimmten Titer eingestellt werden. Zudem braucht man für diese Arbeitsmethode geeignetes Arbeitsgerät und besonders geschultes Personal. Aus all diesen Gründen ist die Lysotypie der Staphylokokken nicht zu einer Standardmethode des Laborbetriebes geworden, sie leistet jedoch wertvolle Beiträge bei epidemiologischen Untersuchungen von Staphylokokkeninfektionen. Durch sie können die Staphylokokken in eine Vielzahl von Typen eingeteilt werden, und wenn die Lysotypie, wie MEYER (1962) es forderte, zusätzlich mit biochemischen Differenzierungsmethoden gekoppelt wird, kann man eventuelle Fehlurteile, wie sie durch die Inkonstanz der Lysisbilder entstehen könnten, vermeiden.

D. STAPHYLOCOCCUS AUREUS-STÄMME ALS LEBENSMITTELVERGIFTER

Koagulasepositive Staphylokokken treten nicht nur als Erreger infektiöser Krankheiten auf. Ein Teil der Staphylokokkenstämme ist befähigt, durch Bildung von Enterotoxinen Lebensmittelvergiftungen hervorzurufen. Nach

MEYER (1962) sind die heutigen Methoden zum routinemäßigen Nachweis von Enterotoxin unbefriedigend, daher ist über die Häufigkeit enterotoxinbildender Staphylokokken nichts genaues bekannt.

Offenbar wird das Wachstum und die Toxinbildung der Staphylokokken durch bestimmte Lebensmittel begünstigt. Nach TÄKÁES und JUHAŚZ (1957) bevorzugen enterotoxische Staphylokokken stark eiweißreiche Substrate.

WORSECK (1956) fand bei seinen Untersuchungen, daß aus Milch mastitiskranker Kühe gezüchtete Staphylokokken zu 60% Enterotoxinbildner waren. Nach KRASSICKAJA (1960) gingen in der Sowjetunion 46% aller staphylokokkenbedingten Lebensmittelvergiftungen von Milcherzeugnissen aus.

Die Infektion der Lebensmittel kann primär sein, hier wären vor allem Milch und Milcherzeugnisse zu nennen. Nach Ansicht von MEYER (1962) ist jedoch die sekundäre Infektion von Lebensmitteln durch Staphylokokken ausscheidende Personen bei weitem häufiger.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. MATERIAL UND METHODIK

1. Entnahme, bakteriologische Untersuchung und indirekte Zellgehaltsbestimmung von Viertelgemelkproben beim Rind

Das Material für diese Untersuchungen stammte von 172 Kühen dreier Versuchsherden mit gehäuftem Auftreten von Staphylokokkenmastitiden. Die allgemeine Herdenuntersuchung wurde dreimal durchgeführt. Von 68 Kühen der Herde I wurden 684 Viertelgemelkproben genommen, von 33 Kühen der Herde II 274 Viertelgemelkproben und von 71 Kühen der Herde III 696 Viertelgemelkproben. Insgesamt wurden 1652 Milchproben untersucht.

Weiter wurden 100 Tupferproben genommen, 40 von Herde I und je 30 von Herde II und III.

Von den Staphylokokken ausscheidenden Kühen wurden 22 Kühe mit 31 erkrankten Euterviertеln ausgewählt. Von diesen 31 Euterviertеln wurden in bestimmten Abständen sechsmal Viertelgemelkproben genommen und untersucht.

Die Probeentnahme erfolgte nach der Methode von DIERNHOFER (1950). Als Desinfektionsmittel wurde 70%iger vergällter Alkohol verwendet. Die Proben wurden unmittelbar nach der Entnahme gekühlt und innerhalb von drei Stunden verarbeitet. Von jeder Milchprobe wurde ein Tropfen mit einer Pipette (0,05 ml) auf einer Blutagarplatte (7%iger Zusatz in phys. NaCl-Lösung aufgeschwemmter Rindererythrozyten) mit Drigalskispatel ausgestrichen. Die Blutplatten wurden 36 - 48 Stunden bei 37°C bebrütet. Danach erfolgte die Prüfung der Kolonien nach Form, Pigment und Hämolyse. Die Keimzahl der Proben wurde durch Auszählen der pro Platte gewachsenen Kolonien festgestellt.

Die indirekte Zellgehaltsbestimmung wurde nach der Methode von SCHALM (1960) durchgeführt. In die vier Aufsätze der Plastiktestschale wurden je

circa 2 ml der Milchprobe gegeben und mit der gleichen Menge Testflüssigkeit unter kreisförmiger Bewegung der Testschale gemischt. Dabei erfolgte die Beurteilung der Probe nach dem Schema von SCHALM (1960).

Diese Herdenuntersuchungen wurden durchgeführt, um einen Überblick über die Mastitissituation der Versuchsherden zu erhalten.

2. Entnahme und bakteriologische Untersuchung von Abstrichen von verschiedenen Körperstellen des Rindes, von Melkbechern und den Händen der Melker

Die Untersuchung der Umwelt wurde durchgeführt, um eventuelle Zusammenhänge zwischen den Euterinfektionen und der sonstigen Staphylokokkenbesiedlung der Stallungen zu finden. Untersucht wurden Zitzen- und Euterhaut kranker und gesunder Tiere, Melkbecher und die Hände der Melker. Zudem wurden Nasen- und Perineumabstriche genommen. Die Abstriche wurden mit Wattetupfern entnommen. Als Proberöhrchen dienten mit 5 ml steriler Bouillon gefüllte Rundbodengläser. Nach Entnahme des Abstriches wurden die Wattetupfer wieder in die Proberöhrchen gesteckt, die durch einen am Stiel des Tupfers befestigten Zellstoffpfropfen verschlossen wurden. Der Ausstrich der Proben im Labor erfolgte auf Blutplatten, denen zur Hemmung grammnegativer Keime Polymyxin-B-Sulfat (30 E pro ml) zugesetzt worden war. Nach circa 15stündiger Bebrütungszeit bei 37°C waren die Staphylokokkenkolonien zu erkennen. Sie wurden auf frische Blutplatten überimpft und etwa 30 Stunden bei 37°C bebrütet.

3. Lysotypie der Staphylokokken

Ein von GEDEK (1966) zur Testung boviner Staphylokokken aufgestellter Phagensatz wurde verwendet, der aus Phagen des Basissatzes, Zusatzphagen (') und von DAVIDSON (1961b) isolierten Phagen ('') bestand.

Gruppe I und verwandte Phagen:	29, 52, 52A, 79, 80, 825', 101'', 110''
Gruppe III:	6, 42E, 47, 53, 77, 31B'
Gruppe IV:	42D, 102'', 107'', 108'', 111''
Gruppe M:	81
Gruppe 78:	78', 115''

Die aus Milchproben bzw. aus Abstrichen gewonnenen und reingezüchteten Staphylokokken wurden in sterile Bouillon überimpft und vier bis sechs Stunden bei 37°C bebrütet. Der für die Lysotypie verwendete Nährboden bestand aus einer Unterschicht von jeweils 17 ml Blood Agar Base (Oxoid) und einer Oberschicht von jeweils 17 ml Nutrient Agar (Oxoid) mit einem Zusatz von 2 ml 1%iger $CaCl_2$-Lösung pro 100 ml. Die Platten wurden drei Stunden im Brutschrank übertrocknet und dann mit jeweils 1 ml der Bouillon überschichtet. Die überschüssige Bouillon wurde abpipettiert. Die Platten wurden bei Zimmertemperatur offengehalten, bis die Bouillon vom Agar aufgesogen worden war. Nach dem Trocknen der Platten wurde die Phagenpräparation nach einem bestimmten Schema mit Platinösen (3 mm Durchmesser) aufgetropft. Nachdem die aufgetropfte Phagenpräparation bei offengehaltener Platte in den Agar eingedrungen war, wurden die Platten 18 Stunden bei 30°C bebrütet.

Die Staphylokokkenkulturen wurden mit der RTD [1] getestet. War ein Stamm mit der RTD nicht zu typisieren, wurde die 100- bzw. 1000fache Konzentration verwendet.

Die Auswertung der Testergebnisse erfolgte nach dem Schema von BLAIR und WILLIAMS (1961):

starke Lysis	++	=	mehr als 50 plaques [2] pro Tropfen, semikonfluierende und konfluierende Lysis
schwache Lysis	+	=	20 bis 50 plaques pro Tropfen
	±	=	weniger als 20 plaques pro Tropfen

Von den Staphylokokken ausscheidenden Eutervierteln wurden insgesamt 31 Euterviertel ausgewählt, die sich durch hohen und verhältnismäßig konstanten Keimgehalt ihrer Milch auszeichneten. Um die Weiterdifferenzierung der Staphylokokken durchzuführen, wurde bei den aus diesen 31 Eutervierteln isolierten Staphylokokkenkulturen die Lysotypie noch mit biochemischen Untersuchungsmethoden gekoppelt.

---

1) routine test dilution, die höchste Verdünnung eines Phagen, die mit dem homologen Staphylokokkenstamm gerade noch konfluierende Lysis bewirkt.

2) Unbewachsene Stellen im Bakterienrasen, die infolge Lysis der Bakterien durch die Phagen entstanden sind.

4. Zusätzliche biochemische Differenzierung

Bei diesen Untersuchungen wurde die Eigelbreaktion und der Kristallviolett-Test angewendet.

Die Eigelbreaktion wurde nach der von GRÜN (1964) angegebenen Methode durchgeführt. Zur Herstellung der Eigelbplatten mischt man Eigelb und phys. NaCl-Lösung zu gleichen Teilen. 10 ml dieser Kochsalz-Eigelbmischung gibt man zu 100 ml Nähragar (pH 7,5), der auf 56°C abgekühlt worden war. Von dem Gemisch gießt man eine 2 mm starke Agarschicht in die Platten. Die Platten wurden im Drei-Ösen-Ausstrich beimpft und nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C ausgewertet. Eine transparente Zone um die Staphylokokkenkultur wurde als positiv gewertet. Eine teilweise Transparenz wurde mit ± bewertet. Trat keine Transparenz auf, so war das Ergebnis negativ.

Der Kristallviolett-Test wurde auf Tryptose Agar (Difco) mit Kristallviolett (Merck, Darmstadt) in einer Konzentration von 1 : 100 000 ausgeführt. Material von 24 Stunden alten Blutagarkulturen wurde in Form von Makrokolonien (circa 5 mm Durchmesser) auf diesen Nährboden in reichlicher Menge aufgetragen. Die Ablesung erfolgte nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°C. Als positiv galt Gelb- bzw. Weißfärbung, als negativ die Violettfärbung der Kolonien.

5. Antibiogramm-Bestimmung

Die Antibiogrammbestimmung wurde mit Hilfe des Blättchentests durchgeführt. Als Nährboden diente D.S.T. Agar Base (Oxoid). Die Platten wurden nach der Beimpfung vier bis fünf Stunden bei Zimmertemperatur belassen; dann wurden die Testblättchen (Bayer, Leverkusen) aufgelegt. Die Testblättchen enthielten Penicillin 0,5 IE, Chloramphenicol 10 γ und Tetracyclin 10 γ.

Nach 24stündiger Bebrütung bei 37°C erfolgte die Auswertung. Stämme mit einem Hemmhof von weniger als 2 mm wurden als resistent bezeichnet.

B. UNTERSUCHUNGEN UND UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

1. Übersicht über die bei den Herdenuntersuchungen in den Viertelgemelkproben nachgewiesenen Keime und die Ergebnisse des Schalm-Mastitis-Tests

Um einen Überblick über die Mastitissituation der drei Versuchsherden zu erhalten, wurden dreimal Viertelgemelkproben von allen laktierenden Kühen genommen und untersucht. Der zeitliche Abstand zwischen den Untersuchungen war so gewählt, daß bei Kühen, die bei einer Untersuchung trocken standen, die anderen Probeentnahmen in die Laktationsperiode fielen. Es lagen also von jeder Kuh der drei Versuchsherden mindestens zwei Untersuchungsergebnisse vor. Tabelle 1 gibt Aufschluß über die bei den Untersuchungen gefundenen Keime, sowie über die Ergebnisse des Schalm-Mastitis-Tests.

Tabelle 1: Übersicht über die bei den Herdenuntersuchungen isolierten Keime und die Ergebnisse des Schalm-Mastitis-Tests

Bakter. Befund	Anzahl der Viertelgemelkproben								
	Herde I			Herde II			Herde III		
	1. Untersuchung	2.	3.	1. Untersuchung	2.	3.	1. Untersuchung	2.	3.
Koagul. posit. Staphylokokken	29 (10) [1]	39 (17)	41 (19)	16 (9)	14 (10)	13 (9)	22 (19)	21 (19)	19 (19)
Koagul. negat. Staphylokokken	20	5 (1)	11	2	7	3 (1)	15 (1)	7	12
Äskulinposit. Streptokokken	8 (4)	-	4 (3)	6 (5)	5 (5)	4 (4)	5 (5)	4 (4)	4 (2)
Äskulinnegat. Streptokokken	4 (1)	-	6 (4)	1 (1)	-	1	1	1 (1)	2 (1)
Escherichia coli	-	-	-	-	1 (1)	-	-	-	1 (1)
Pseudomonas	-	-	1 (1)	1 (1)	1 (1)	-	-	-	-

1) Anzahl der schalmpositiven Viertelgemelkproben

Aus Tabelle 1 geht eine klare Dominanz der koagulasepositiven Staphylokokken als Mastitiserreger in den drei Versuchsherden hervor. Die Regelmäßigkeit der Ausscheidung bei den mit Staphylokokken infizierten Eutervierteln (Tabelle 2) zeigt den Charakter der Staphylokokkenmastitis als chronische Euterinfektion.

Tabelle 2: Häufigkeit des Nachweises von Staphylokokken bei den Herdenuntersuchungen

Häufigkeit des Nachweises von koag. posit. Staphylokokken	Anzahl der Euterviertel in Herde		
	I	II	III
3 mal	29	13	19
2 mal	10 (8) [1]	1 (3)	2 (9)
1 mal	2	2	1

Schwankungen in der Anzahl der staphylokokkenausscheidenden Euterviertel wurden durch unregelmäßige Ausscheider, hauptsächlich aber durch trockenstehende Kühe hervorgerufen. Bei den Euterviertel, bei denen nur ein positiver Befund vorlag, könnte es sich um eine frische Infektion bei der letzten Probeentnahme handeln, bzw. um eine Kontamination der Proben.

2. Ergebnis der Typisierung der gesamten aus den Viertelgemelkproben isolierten Staphylokokkenstämme der drei Versuchsherden

Sämtliche koagulasepositiven Staphylokokken wurden auf Blutplatten reingezüchtet und mit Hilfe der Lysotypie differenziert. Hierbei wurde mit der RTD gearbeitet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt.

1) In Klammern Anzahl der trockenstehenden Kühe

Tabelle 3: Übersicht über die Typisierungsergebnisse der gesamten aus Viertelgemelkproben isolierten Staphylokokkenstämme der drei Versuchsherden

Anzahl der Staph. aureus-Stämme			Lysisbild
Herde I	Herde II	Herde III	
1	-	-	31B/107/111
4	1	-	107/111
-	2	-	107
1	-	-	111
-	1	-	102/108
-	-	2	102/108/111
3	-	3	102/107/108/111
3	-	-	42D/102/107/108/111
1	2	-	101/42D/102/107/108/111
-	-	2	101/102/107/108/111
1	-	-	101/42D/107/111
2	-	-	52/52A/80
3	1	1	29/52/52A/80
12	4	12	ub [1]

Aus Tabelle 3 geht hervor, daß der größte Teil der isolierten Staphylokokkenstämme der Lysogruppe IV angehörte. Von Gruppe I reagierten die Phagen 29, 52, 52A, 80 und 101. Von Gruppe III reagierte nur der Phage 31B. Mit den Phagen der Gruppen "M" und "78" reagierte keiner der Staphylokokkenstämme.

Die typisierten Staphylokokkenstämme lassen sich auf sechs charakteristische Phagenbilder zurückführen. In Herde I traten alle sechs Phagenbilder auf, in Herde II wurden fünf, in Herde III wurden vier Phagenbilder gefunden.

1) ub: unbestimmbare Staphylokokkenstämme

3. Typisierungsergebnisse von Staphylokokken aus Abstrichen von Euter- und Zitzenhaut

Für diese Untersuchungen wurden 100 Abstriche von der Euter- und Zitzenhaut, sowie von den Nasenöffnungen, dem Perineum, von Melkbechern und den Melkerhänden genommen. Koagulasepositive Staphylokokken konnten dabei nur von der Euter- und Zitzenhaut isoliert werden. Die Staphylokokkenstämme wurden mit der RTD getestet. Tabelle 4 gibt Aufschluß über die Lysisbilder der durch die Abstriche gewonnenen Staphylokokken.

Tabelle 4: Lysisbilder der aus Abstrichen isolierten Staphylokokken

Fundort			Lysisbild
Herde I	Herde II	Herde III	
-	Euter- u. Zitzenhaut	Euter- u. Zitzenhaut	102/107/108/111
Euter- u. Zitzenhaut	-	-	42D/102/107/108/111
Euterhaut	Zitzenhaut	-	107/111
Euterhaut	-	-	31B/42D/102/107/108/111
Zitzenhaut	-	Euter- u. Zitzenhaut	825/102/107/108/111
Euter- u. Zitzenhaut	Euter- u. Zitzenhaut	Euter- u. Zitzenhaut	ub

Tabelle 4 zeigt, daß Euter- und Zitzenhaut als hauptsächliche Brutstätte der Staphylokokken und somit als Infektionsquelle der Staphylokokkenmastitis anzusehen sind. Staphylokokken an Melkgerät und den Händen des Melkpersonals dürften ebenfalls von der Euter- und Zitzenhaut stammen. Durch entsprechende hygienische Maßnahmen wäre hier die Infektionskette zu unterbrechen.

Die aus Abstrichen isolierten Staphylokokkenstämme gehören den gleichen Lysogruppen an wie die aus den Eutervierteln gewonnenen Staphylokokken. Neu ist die Reaktion des Phagen 825.

Wie unterschiedlich der Keimgehalt der Abstriche und das Verhältnis der Keimarten zueinander waren, geht aus Tabelle 5 hervor. Die Keimzahl wurde durch Auszählen der pro Platte gewachsenen Kolonien bestimmt.

Tabelle 5: Gesamtkeimzahl und prozentualer Anteil der koagulasepositiven Staphylokokken der Abstriche

Tupfer-probe	Gesamt-keimzahl	prozentualer Anteil der Staphyl.	Tupfer-probe	Gesamt-keimzahl	prozentualer Anteil der Staphyl.
2	32	50	58	150	70
5	1000	2	59	450	60
6	80	60	62	20	50
9	50	30	65	130	2
10	120	10	66	50	10
13	600	2	68	200	20
14	160	90	69	150	70
16	200	3	70	600	8
18	180	80	75	180	40
19	50	20	76	30	90
20	20	10	77	280	60
23	80	40	78	200	95
28	250	10	81	350	40
35	150	70	82	50	80
41	40	50	83	2	100
42	2000	2	84	800	1
44	250	60	86	30	50
47	10	50	87	80	60
48	80	80	89	500	20
51	1500	10	90	350	3
53	2300	0,5	93	1500	1
54	100	30	94	90	20
57	150	70	97	250	15
			98	10	100

54 Tupferproben enthielten keine koagulasepositiven Staphylokokken oder die Staphylokokken waren von anderen Keimen so überwachsen, daß sie nicht mehr isoliert werden konnten.

4. Typisierungsergebnisse von Staphylokokken aus Euterviertеln vor und nach der antibiotischen Behandlung mit Hilfe der Lysotypie, biochemischer Methoden und der Antibiogrammbestimmung

Von den Kühen der drei Versuchsherden wurden solche ausgewählt, die Staphylococcus aureus konstant und in großer Menge mit der Milch ausschieden. In Herde I wurden 12 Kühe mit 19 Staphylokokken ausscheidenden Euterviertеln, in Herde II zwei Kühe mit drei infizierten Euterviertеln, in Herde III acht Kühe mit neun Staphylokokken ausscheidenden Euterviertеln für diese Untersuchungen ausgewählt.

Die isolierten Staphylokokkenstämme wurden mit der RTD, der 100fachen und der 1000fachen RTD getestet.

Da von diesen 31 Euterviertеln je dreimal vor und nach der Behandlung mit Antibiotika Milchproben genommen und pro Milchprobe 10 Kolonien getestet wurden, lagen pro Euterviertel 60 Testergebnisse vor.

Um die Weiterdifferenzierung der Staphylokokken durchzuführen, wurde die Lysotypie mit zusätzlichen Differenzierungsmethoden gekoppelt.

Vor der Behandlung mit antibiotischen Mitteln wurden mit Hilfe des Antibiogramms die Staphylokokkenstämme auf ihre Antibiotikaresistenz untersucht. Dabei wurde nur ein penicillinresistenter Stamm gefunden, der das Lysisbild 102/108/111 hatte und in Tabelle 6 unter Nr. 26 aufgeführt ist.

Bei der Behandlung mit Antibiotika wurden folgende Medikamente verwendet:

1) Aulicin (Tierarzneimittel-Großhandel, Aulendorf), ein Penicillin-G-Natrium-Präparat. Pro Euterviertel wurden 1500 000 IE verabreicht.

2) Tarimyl (Les laboratoires Roussel, Paris) ist ein Kombinationspräparat von Framemycetinsulfat 500 mg, Erythromycinthiocyanat 333 mg, Diaphenylsulfon 33,3 g, Salbengrundlage ad 100. Pro Euterviertel wurden 15 g verwendet.

3) Procain-Penicillin (Bakteriologisches Institut Dr. Rentschler & Co., Laupheim), in wäßriger Suspension. 1 ml enthält 250 000 IE Procain-Penicillin G. Pro Euterviertel wurden 1500 000 IE verabreicht.

4) M-Dikapen (Bakteriologisches Institut Dr. Rentschler & Co., Laupheim), enthält Kanamycinbase 35 mg, Procain-Penicillin 200 000 IE, Dihydrostreptomycinbase 225 mg und Diaphenylsulfon 550 in öligem Medium.

Nach der Behandlung wurden erneut Milchproben entnommen und auf ihren Staphylokokkengehalt untersucht. Die isolierten Staphylokokken wurden mit Hilfe der Lysotypie und biochemischer Methoden differenziert, um eventuelle Veränderungen innerhalb der Staphylokokkenpopulation festzustellen.
Die Ergebnisse der Lysotypie, der biochemischen Differenzierungsmethoden vor und nach der antibiotischen Behandlung und die Behandlung der Euterviertel wurden in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Typisierungsergebnisse von Staphylokokken aus Eutervierteln vor und nach der antibiotischen Behandlung mit Hilfe der Lysotypie und biochemischer Methoden.

Nr. der Probe	Lysisbild des Staphylokokkenstammes	Phagenpräp.	KV	Eigelb	Medikament 1. Beh.	Medikament 2. Beh.	Veränderung nach der Behandlung
1	ub	1000 RTD	+	+	Aul.	Aul.	
2	42D/102/107/108/111	RTD	+	-	Aul.	Aul.	
3	42D/111	100 RTD	+	+	Proc.	-	
4	107/111	RTD	+	+	Tar.	-	
5	ub	1000 RTD	+	+	Tar.	-	KV ±
6	52/52A/80	RTD	-	-	Aul.	Aul.	
7	102/107/108/111	1000 RTD	+	+	Aul.	Aul.	
8	101/42D/102/107/108/111	100 RTD	+	+	Aul.	Aul.	
9	101/42D/102/107/108/111	100 RTD	+	+	Aul.	Aul.	
10	101/31B/42D/102/107/108/111	100 RTD	+	+	Tar.	-	
11	29/52/52A/80	RTD	-	-	Aul.	Aul.	
12	29/52/52A/80	RTD	-	-	Dik.	Tar.	
13	101/31B/42D/102/107/108/111	100 RTD	+	+	Dik.	Dik.	
14	107/111	RTD	+	+	Dik.	Dik.	keine Ausscheidung

Tabelle 6 (Fortsetzung)

Nr. der Probe	Lysisbild des Staphylokokkenstammes	Phagenpräp.	KV	Eigelb	Medikament 1. Beh.	Medikament 2. Beh.	Veränderung nach der Behandlung
15	107/111	RTD	+	+	Dik.	Dik.	
16	102/107/108/111	RTD	+	+	Dik.	Tar.	
17	107/111	RTD	+	+	Aul.	Proc.	
18	42D/102/107/108/111	RTD	+	-	Aul.	Aul.	
19	42D/102/107/108/111	RTD	+	-	Dik.	Proc.	
20	42D/111	100 RTD	+	+	Dik.	Proc.	
21	101/42D/102/107/108/111	RTD	+	+	Aul.	-	
22	101/42D/102/107/108/111	RTD	+	+	Aul.	-	
23	101/102/107/108/111	RTD	+	+	Dik.	-	
24	101/102/107/108/111	RTD	+	+	Dik.	-	
25	101/108/111	RTD	+	+	Dik.	-	
26	102/108/111	RTD	+	+	Tar.	-	
27	ub	1000 RTD	+	+	Dik.	-	
28	102/107/108/111	RTD	+	+	Tar.	-	keine Ausscheidung

Tabelle 6 (Fortsetzung)

Nr. der Probe	Lysisbild des Staphylokokkenstammes	Phagenpräp.	KV	Eigelb	Medikament 1. Beh.	Medikament 2. Beh.	Veränderung nach der Behandlung
29	ub	1000 RTD	+	+	Dik.	-	
30	ub	1000 RTD	+	+	Tar.	-	
31	102/107/108/111	RTD	+	+	Tar.	-	

Abkürzungen in Tabelle 6:

Proc. = Procain-Penicillin
Tar. = Tarimyl
Dik. = Dikapen
Aul. = Aulicin

IV. DISKUSSION

Es ist erwiesen, daß koagulasepositive Staphylokokken weit häufiger als Erreger von Euterentzündungen vorkommen als koagulasenegative (DAVIDSON 1961a, PLASTRIDGE 1958).

Bei den hier vorliegenden Untersuchungen wurden in 1,5% der Viertelgemelkproben koagulasepositive Staphylokokken als Mastitiserreger gefunden. Bezogen auf die Anzahl der keimhaltigen Viertelgemelkproben betrug der Anteil der koagulasepositiven Staphylokokken 70%. Das Verhältnis von koagulasepositiven zu koagulasenegativen Staphylokokken betrug nahezu 2 : 1. Diese Ergebnisse stimmen mit Veröffentlichungen von BRODAUF (1964), ECKERT (1959) und anderen überein, die ebenfalls eine stark ansteigende Verbreitung der koagulasepositiven Staphylokokken als Mastitiserreger feststellten. Bei 60% der koagulasepositive Staphylokokken enthaltenden Viertelgemelkproben war auch der Schalm-Mastitis-Test erhöht. Bei den Eutervierteln, die koagulasenegative Staphylokokken ausschieden, war der Schalm-Mastitis-Test nur in 4% der Fälle positiv. Hierdurch wird noch einmal gezeigt, daß den koagulasepositiven Staphylokokken die weit größere Bedeutung als Mastitiserreger zukommt als den koagulasenegativen. Koagulasepositive und koagulasenegative Staphylokokken konnten wiederholt aus Eutervierteln isoliert werden, doch zeigte sich bei den koagulasenegative Staphylokokken ausscheidenden Eutervierteln nicht die gleiche Konstanz in der Ausscheidung wie bei den koagulasepositiven. Über das Vorkommen koagulasenegativer Staphylokokken liegen nur wenige Arbeiten vor (PLASTRIDGE 1958, DAVIDSON 1961a).

Die Untersuchungen der willkürlich ausgewählten Herden zeigten, daß, wenn Dominanz der koagulasepositiven Staphylokokken besteht, auch koagulasenegative Staphylokokken aus den Eutervierteln isoliert werden konnten.

Verschiedene Untersucher haben sich mit dem Vorkommen von Phagtypen in Rinderherden befaßt (DAVIDSON 1961c, NAKAGAWA 1960, LOKEN und HOYT 1962 und andere). Übereinstimmend wird von ihnen erklärt, daß in vielen Fällen zwar ein Phagtyp pro Herde dominiert, daß aber auch mit weiteren heterologen Staphylokokkenstämmen gerechnet werden muß. Wie

aus Tabelle 3 hervorgeht, wurden in den drei Versuchsherden allein mit der Lysotypie insgesamt sechs Staphylokokkentypen gefunden, die nach dem Schema von BLAIR und WILLIAMS (1961) als different anzusehen sind. In Herde I traten sechs Typen auf. In Herde II wurden fünf, in Herde III vier verschiedene Staphylokokkentypen gefunden.

Die Dominanz einer Lysogruppe konnte festgestellt werden. 80% der isolierten Staphylokokkenstämme gehörten der Lysogruppe IV an, die restlichen 20% waren der Lysogruppe I zuzurechnen. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen von GEDEK (1966) und PULVERER (1965) überein, die ebenfalls feststellten, daß die meisten ihrer Staphylokokkenstämme mit Phagen der Gruppe IV reagierten.

Die Staphylokokkenfunde von den verschiedenen Körperstellen des Rindes bestätigen die Ergebnisse anderer Untersucher (SCHALM und WOODS 1953, DAVIDSON 1961c), die feststellten, daß die Staphylokokken bevorzugt auf der Euter- und Zitzenhaut nachgewiesen werden können. Daß diese Körperstellen häufig eine starke Staphylokokkenbesiedlung aufweisen, zeigt Tabelle 5, aus der hervorgeht, daß auch Proben mit hoher Gesamtkeimzahl einen Staphylokokkenanteil von bis zu 60% haben können.

Ein extremer Fall ist die Tupferprobe Nr. 59 mit einer Gesamtkeimzahl von 450 pro Platte und einem 60%igen Staphylokokkenanteil.

Für die Isolierung von Staphylokokken aus Tupferproben hat sich die Anwendung von Polymyxin.B-Agar zur Hemmung gramnegativer Keime gut bewährt. Um ein Überwuchern der Staphylokokken durch andere Keime zu verhindern, könnte man versuchen, mit einer Bebrütungszeit von weniger als 15 Stunden auszukommen.

Die in Tabelle 6 dargestellten Ergebnisse zeigen die beachtliche Konstanz der Lysisbilder der Staphylokokken. Bei sechs Probeentnahmen, die über einen größeren Zeitraum verteilt vorgenommen wurden, zeigte keines der Lysisbilder eine Veränderung in den starken Phagenreaktionen. Lediglich bei den schwachen Reaktionen kam es gelegentlich zu Veränderungen. Deutlich waren diese Veränderungen bei dem Stamm mit dem Lysisbild 102/107/108/111/+, der, aus dem Euterviertel Nr. 16 isoliert, zweimal Änderungen in den schwachen Reaktionen zeigte, während bei den aus Euterviertel 28 und 31 isolierten Staphylokokken des gleichen Stammes

keine Änderungen auftraten. Aus diesen Ergebnissen geht hervor, daß eine Inkonstanz der Lysisbilder infolge von Lysogenisation oder Verlust des Prophagen (WAHL und FOUACE 1954) nicht zu beobachten war.

Interessant ist bei diesen Untersuchungen, daß der Anteil der nicht typisierbaren Stämme durch die Anwendung der 100fachen und 1000fachen RTD stark sank. Von den bei den 31 zur Behandlung ausgewählten Euterviertеln festgestellten zwölf Staphylokokkenstämmen, die nicht mit der RTD zu differenzieren waren, ließen sich sechs mit der 100fachen RTD typisieren. Sie zeigten zwei verschiedene Phagenbilder. Mit der 1000fachen RTD ließ sich ein weiterer Stamm typisieren. Hieraus geht hervor, daß mit der RTD nicht typisierbare Kulturen nicht als ein Typ angesehen werden dürfen.

Obwohl die Lysisbilder der Staphylokokken aus den Euterviertеln Nr. 16, 26 und 28 einerseits und aus dem Euterviertel Nr. 7 andererseits gleich sind, handelt es sich doch um verschiedene Stämme, weil die erstgenannten Kulturen bereits mit der RTD reagierten, während die Staphylokokken aus Euterviertel Nr. 7 erst mit der 1000fachen RTD reagierten. Das gleiche gilt für die Euterviertel Nr. 21, 22 und 9. Hierdurch erhöht sich die Zahl der in den Herden gefundenen Staphylokokkentypen auf neun.

46% der Tupferproben enthielten Staphylokokken. Alle diese Proben stammten von der Euter- und Zitzenhaut. Der prozentuale Anteil der positiven Proben von Euter- und Zitzenhaut steigt noch, wenn man berücksichtigt, daß 25 der 100 Tupferproben von anderen Körperstellen der Rinder sowie von Melkbechern und den Händen des Melkpersonals stammten. Dies unterstreicht die Bedeutung der Melkhygiene bei der Bekämpfung der Staphylokokkenmastitis. DAVIDSON (1961a) wies darauf hin, wie wichtig es ist, das Staphylokokkenangebot in der Nähe der Milchdrüsen gering zu halten, da mit den derzeitigen Mitteln eine Ausrottung der Staphylokokken nicht möglich erscheint. Gelegentliche Staphylokokkenfunde in Melkbechern dürften ebenfalls von der Euter- und Zitzenhaut infizierter Tiere stammen und stellen eine Gefahr für die übrigen Tiere eines Bestandes dar. Das gleiche gilt für Staphylokokkenfunde an den Melkerhänden. Allerdings könnte es sich hierbei auch um Staphylokokkenstämme humaner Herkunft handeln, die, wie DAVIDSON (1961c) berichtete, keine große Bedeutung als Mastitiserreger beim Rind besitzen, doch aus lebensmittelhygienischen Gründen ebenfalls zu bekämpfen sind.

Die Typisierungsergebnisse der aus Abstrichen gewonnenen Staphylokokken ergaben, daß die Staphylokokken von Euter- und Zitzenhaut die gleichen Lysisbilder hatten wie die aus den Viertelgemelkproben isolierten Stämme. Hierdurch werden die Ergebnisse von DAVIDSON (1961c) und SCHALM und WOODS (1953) bestätigt, die festgestellt hatten, daß die Infektionsquelle der Staphylokokkenmastitis an besagten Hautstellen zu suchen ist. Lediglich ein Staphylokokkenstamm wurde auf der Euterhaut gefunden, der aus Viertelgemelkproben nicht isoliert worden war. Nach DAVIDSON (1961c) ruft jeder Staphylokokkenstamm, der sich in einer Herde längere Zeit halten kann, früher oder später eine Mastitis hervor. Es dürfte sich hierbei um einen potentiellen Mastitiserreger handeln.

Trotz massiver Behandlung von 31 staphylokokkeninfizierten Eutervierteln mit hohen Dosen von Antibiotika konnte nur in zwei Fällen die Ausscheidung von Staphylokokken verhindert werden, obwohl eine gute Antibiotikasensibilität in vitro vorlag. Lediglich in einem Fall war der aus einem Euterviertel isolierte Stamm penicillinresistent. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Aussagen von SEELEMANN (1951) und KÄSTLI und BINZ (1948), die die Staphylokokkenmastitis als Krankheit von harmlosem Verlauf mit einer Tendenz zur spontanen Ausheilung beschrieben. Es bestätigt hingegen die Ergebnisse von PLATANOW und BLOBEL (1963), wonach die Staphylokokkenmastitis eine ungünstige Prognose hat. Ob es sich in den beiden Fällen, in denen es zu keiner neuen Ausscheidung nach der Behandlung kam, um eine echte Heilung handelt, bleibt dahingestellt.

Die gute Antibiotikasensibilität der isolierten Staphylokokken bestätigt die Untersuchungen von REHDER (1959) und anderen, wonach die Antibiotikaresistenz der Staphylokokken in der Tiermedizin noch eine untergeordnete Rolle spielt.

Interessant ist ferner noch die Frage, ob durch die massive antibiotische Behandlung der infizierten Euterviertel Veränderungen in der Phagensensibilität der Staphylokokken auftraten. Bei diesen Untersuchungen konnten derartige Veränderungen nicht festgestellt werden. Die antibiotische Behandlung hatte keinen Einfluß auf die Lysisbilder der Staphylokokken.

Das gleiche gilt auch für die Ergebnisse der biochemischen Reaktionen. Nur in einem Fall war das Ergebnis des Kristallviolett-Tests nach der Behandlung eine Änderung der Reaktionsstärke. Zu ähnlichen Ergebnissen waren auch schon PLATANOW und BLOBEL (1963) gelangt. Allerdings hatten diese Un-

tersucher die Differenzierung der Staphylokokken vor und nach der antibiotischen Behandlung nur mit Hilfe der Lysotypie vorgenommen.

MATEJOVSKA und JELINEK (1958) fanden bei ihren Untersuchungen, daß sich die Lysisbilder von Staphylokokkenstämmen nach antibiotischer Behandlung in vitro verändern können. Daß solche Änderungen des Lysisbildes nach antibiotischer Behandlung auch bei Staphylokokken in infizierten Eutervierteln vorkommen, konnte nach diesen Untersuchungen nicht festgestellt werden.

Als Hauptdifferenzierungsmethode bei diesen Untersuchungen hat sich die Lysotypie bewährt. Mit dem von GEDEK (1966) zur Typisierung boviner Staphylokokken aufgestellten Phagensatz konnten 86% der Staphylokokken typisiert werden. Dies gilt allerdings nur für die in Tabelle 6 aufgeführten Ergebnisse, weil hier auch mit der 100fachen und 1000fachen RTD gearbeitet worden war. Durch die biochemischen Reaktionen war, wenn man von einem Einzelfall absieht (Tabelle 6, Nr. 5), keine weitere Differenzierung der Staphylokokken möglich. Stets zeigten die Stämme mit gleichem Lysisbild auch gleiche biochemische Reaktionen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Sämtliche Viertelgemelkproben von 172 Kühen aus drei Herden wurden insgesamt dreimal kulturell und mit Hilfe des Schalm-Mastitis-Tests untersucht.

   In 60% war der Nachweis koagulasepositiver Staphylokokken mit erhöhtem Zellgehalt der Milchproben verbunden.

2. Alle in den Viertelgemelkproben nachgewiesenen koagulasepositiven Staphylokokken wurden mit Hilfe der Lysotypie differenziert. Insgesamt neun verschiedene Lysisbilder wurden ermittelt. In Herde I waren nach der Regel von BLAIR und WILLIAMS (1961) acht, in Herde II fünf, in Herde III vier heterologe Staphylococcus aureus-Typen vorhanden.

3. Zur Untersuchung der Umwelt wurden in Herde I 40 Tupferproben, in Herde II und III je 30 Tupferproben genommen. Koagulasepositive Staphylokokken wurden in größerem Umfang an Euter- und Zitzenhaut nachgewiesen. Ein Phagentyp wurde in der Umwelt ermittelt, der nicht aus den Viertelgemelkproben der gleichen Herde isoliert worden war.

4. 31 mit Staphylokokken infizierte Euterviertel wurden teilweise mit massiven Dosen von Antibiotika behandelt. Die mit Hilfe der Lysotypie, der Antibiogrammbestimmung und der Fermentreaktionen vor und nach der Behandlung typisierten Stämme zeigten keine Unterschiede in den Typisierungsergebnissen.

5. Die Lysisbilder der sechsmal zu verschiedenen Zeitpunkten aus den Euterviertel isolierten Staphylokokken waren in ihren starken Phagenreaktionen konstant. Gelegentliche Verschiebungen traten nur in den schwachen Phagenreaktionen auf.

6. Durch die massive antibiotische Behandlung konnte nur in zwei von 31 Fällen ein Versiegen der Ausscheidung von Staphylococcus aureus beobachtet werden.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

Barber, M., Brooksbank, B.W.L. and Kuper, S.V.A. — J. Path. 63, 57 (1951) zit. nach Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1964;

Barnum, D.A. and Fuller, D.S. — Bacteriophage typing of the staphylococci associated with bovine mastitis. Canad. J. Comp. Med. 20, 173 (1956);

Beseth, L. — Untersuchungen über das Vorkommen der Staphylokokken als Mastitiserreger beim Rind in Trondelag. Nord. Vet. Med. 15, 745 (1963);

Birch-Hirschfeld, L. — Über die Agglutination von Staphylokokken durch Bestandteile des Säugetierplasmas. Klin. Wschr. 13, 331 (1934);

Blair, J.E. and Carr, M. — J. Infekt. Dis. 93, 1 (1953) zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambrosius Barth Verlag, Leipzig 1962;

Blair, J.E. and Williams, R.E.O. — Phage typing of staphylococci. Bull. Wld. Hlth. Orig. 24, 741 (1961);

Blobel, H. and Berman, D.T. — Vakzination gegen Staphylokokkenmastitis der Kühe. Kongreßbericht des XVII. Welttierärztekongresses, Bd. 2, 1305, Hannover 1963;

Brodauf, H.	Die Staphylokokkenfrage aus der Sicht des Eutergesundheitsdienstes. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 71, 85 (1964)
Chapman, G.H. and Berens, C.	J. Bact. 41, 431 (1941) zit. nach Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1964;
Christie, R. and Wilson, H.	A test of staphylococcal fibrinolysis. Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 19, 359 (1941);
Cowan, S.T.	The classification of staphylococci by slide agglutination. J. Path. Bact. 48, 169 (1939);
Crone-Münzebrock, A. und Korth, W.	Staphylokokkenresistenz und ihre Bekämpfung. Chirurg. 28, 534 (1957);
Davidson, I.	The epidemiology of staphylococcal mastitis. Vet. Record 73, 1015 (1961a);
Davidson, I.	A set of bacteriophages for typing bovine staphylococci. Res. Vet. Sci. 2, 396 (1961b);
Davidson, I.	Observation on the pathogenetic staphylococci in an dairy herd during a period of six years. Res. Vet. Sci. 2, 22 (1961c);
Derbyshire, J.B., Davidson, I. and Wilson, C.D.	Symposium on staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 73, 1011 (1961)

Diernhofer, K. — Diagnostik der Euterentzündungen. Wiener Tierärztl. Mschr. 37, 809 (1950);

Drury, A.R. and san Clemente, C.L. — Response of the bovine udder to artificial introduction of staphylococcus aureus, phagetype 80/81 and subsequent treatment with various drugs. Amer.J.Vet.Res. 23, 262 (1962);

Eckert, A. — Verbreitung und Bekämpfung der Euterinfektionen im Milcheinzugsgebiet Lübeck in den Jahren 1954 - 1958 mit besonderer Berücksichtigung der Staphylokokkeneuterinfektion. Vet.med. Diss., F.U. Berlin 1959;

Edwards, S.J. and Rippon, J.E. — The characters and distribution of certain staphylococci pathogenic for the bovine udder. J. Comp. Path. 67, 111 (1957);

Elek, S.D. and Levy, E. — Distribution of haemolysis in pathogenic and non-pathogenic staphylococci. J. Path. Bact. 62, 541 (1950);

Epstein, St. — Untersuchungen über die Unterscheidung der Staphylokokken bei den verschiedenen Staphylokokkenerkrankungen der Haut. Arch. Dermat. Syph. (Wien) 170, 586 (1934);

Fisk, R.T. — Studies on staphylococci. J. Infect. Dis. 71, 153 (1942);

Fredericq, P. — Actualitéi biochemiques 5, 1 (1946) zit. nach Grün, L.: Staphylococcen in Klinik und Praxis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1964;

Gedek, W. — Ein Bakteriophagensatz zur Typisierung boviner Staphylokokken. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 79, 292 (1966);

Gedek, W., Dunkel, R. und Kotter, L. — Zum Vorkommen antibiotikaresistenter Stämme der Familie Micrococcaceae in Kuhmilch. Tierärztl. Umschau 7, 337 (1964);

Grün, L. — Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftl. Verlagsges. mbH, Stuttgart (1964);

Grün, L. — Serologische Untersuchungen an pyogenen Staphylokokken. Z. Hyg. Infekt.-Kr. 144, 238 (1957);

Grün, L. und Pulverer, G. — Ergebnisse einer Differenzierung von Staphylokokken des Phagtyps "80". Z. Hyg. Infekt.-Kr. 146, 385 (1960);

Heidrich, H.J. und Renk, W. — Die Krankheiten der Milchdrüse bei Haustieren. Paul Parey Verlag, 1963;

Kaffka, A. — Erfahrungen mit einfachen Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Hyaluronidase, Fibrinolysin und Phosphatase bei Staphylokokken. Zbl. Bakt. I Orig. 168, 381 (1957);

Kästli, P. und Binz, M. — Die Bedeutung der Euterinfektion für die Entstehung von katarrhalischen Sekretionsstörungen bei der Milchkuh. Schweiz. Arch. Tierhlk. XC, 349 (1948);

Klastrup, O. — Krystalvioletagar til differentiering of stafylokokker, isoler de fra aseptik udlagne maelkeprover. Nord. Vet. Med. 7, 315 (1955);

Klastrup, O. — Om stafylokokmastitis. Nord. Veterinarmotet Helsingfors 8 Sectt. M. Rapport 4 (1958);

Krassickaja, E.S. — Staphylokokkenlebensmittelvergiftungen in der russ. sowjet. Republik. Gig. i San. 25, 174 (1960);

Krynski, Kedzia, Becla et Krasowski — Différences d'activité biochimique chez staphylococcus pyogenes prélevé dans les produits pathologiques et chez les sujets sains. Ann. Inst. Pasteur 102, 231 (1962);

Karska, B., Kozak, W., Narbutowicz, B. and Slotarska, A. — The lysogenicity of staphylococci isolated in Poland. J. Gen. Microbiol. 23, 577 (1960);

Levy, E., Rippon, J.E. and Williams, R.E.O. — Relation of bacteriophage pattern to some biological properties of staphylococci. J. Gen. Microbiol. 9, 97 (1953);

Livoni, P. — Mastitis und Mastitisbekämpfung. Vortrag auf dem S.A.S. Internat. Kongreß 28. - 29. August 1956 in Kolching;

Loken, K.J. and Hoyt, H.H. — Studies of bovine staphylococcic mastitis. Amer. J. Vet. Res. 23, 534 (1962);

Lowbury, E.J.L. and Hood, A.M. — The acquired resistance of staphylococcus aureus to bacteriophage. J. Gen. Microbiol. 9, 524 (1953);

Matejovska, V. und Jelinek, J. — Beitrag zur Frage der Standardisierung der Lysotypie von Staphylococcus aureus. Zbl. Bakt. I Orig. 171, 584 (1958);

Meyer, W. — Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Meyer, W. und Rische, H. — Epidemiologische Betrachtungen zur Variabilität von Staphylococcus aureus. Zbl. Bakt. I Orig. 178, 156 (1960);

Moore, B. — Staphylococcus aureus. Lancet (London) 2, 453 (1960);

Much, H. — Über eine Vorstufe des Fibrinfermentes in Kulturen von Staphylococcus aureus. Biochem. Zschr. 14, 143 (1908);

Nai, D.D. — Mastiti da Micrococcaceae. Atti Soc. Ital. Science Vet. Vol. 11, 77 (1957);

Nakagawa, M. — Studies on bacteriophage typing of staphylococci isolated from bovine milk. Japan.J.Vet.Res. 8, 191 (1960);

Obiger, G. — Zur Frage der Infektiosität der Staphylokokken für das Rindereuter. Milchwissenschaft 17, 550 (1962);

Oeding, P. und Austarheim, K. — Act. path. Microbiol. Scand. 35, 473 (1954) zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Oeding, P. and Williams, R.E.O. — J. Hyg. (Cambridge) 56, 445 (1958) zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Ortel, S. — Die antibiotikaresistenten Staphylokokken. Dtsch. Gesd.-Wes. 12, 397 (1957);

Pakula, R., Rabccynska, F. und Zaleska, H. — Med. Dosw. i Mikrob. Warschau 5, 71(1953) zit. nach Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftl. Verlagsgesellschaft, Stuttgart 1964;

Papavassiliou, J. und Obiger, G.
Über das Vorkommen und das Phagenbild von Koagulase-positiven Staphylokokken in Milch.
Zbl. Bakt. I Orig. 175, 505 (1959);

Pereira, A.T.
Arch. Inst. Câmera Pastena 10, 549 (1960) zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen.
Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Pillet, J., Camels, J., Orta, B. et Chabanier, G.
Étude comparée du type sérologique, de la sensibilité aux bacteriophages et de l'antibiogramme.
Ann. Inst. Pasteur 86, 309 (1954);

Plastridge, W.N.
Bovine Mastitis: A Review.
J. Dairy Sci. 41, 1141 (1958);

Platanow, J. and Blobel, H.
Therapeutic failures in chronic staphylococcic mastitis.
J. Amer. Vet. Med. Ass. 142, 1097 (1963);

Price, P., Neave, F.K., Rippon, J.E. and Williams, R.E.O.
The use of the phage typing and penicillin sensivity tests in studies of staphylococci from bovine mastitis.
J. Dairy Res. 21, 105 (1954);

Pulverer, G.
Zur Lysotypie von Staphylokokken tierischer Herkunft.
Vortrag anläßlich des 5. Colloquiums über Fragen der Lysotypie vom 4. bis 7. Oktober 1965 in Wernigerode (Harz);

Rehder, H.
Die Antibiotikaresistenz euterpathogener Staphylokokken.
Vortrag, gehalten auf der Arbeitstagung "Lebensmittelhygiene" der Dtsch. Veterinärmed. Gesellschaft vom 13. bis 15. Oktober 1959 in Bad Dürkheim;

Renk, W. — Pathogenese der durch Staphylokokken hervorgerufenen Euterentzündungen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 74, 1 (1961);

Richou, R. et Thieulin, G. — Sur la prévention et le traitement des mammites. Recueil. Méd. Vét. 131, 73 (1955);

Römer, G.B. und Schmitz, B. — Untersuchungen über die Eignung verschiedener Methoden zur Differenzierung pathogener und apathogener Staphylokokken unter besonderer Berücksichtigung der Plasmaagglutination, Glukosamin- und Harnstoffspaltung. Arch. Hyg. 135, 274 (1951);

Rountree, P.M. — The serological differentiation of staphylococcal bacteriophages. J. Gen. Microbiol. 3, 164 (1949);

Rountree, P.M. — Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. 25, 359 (1947) zit. nach Grün, L.: Staphylokokken in Klinik und Praxis. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart 1965;

Ruys, A. Ch. und Borst, J. — Leeuwenhoek (Amsterdam) 25, 237 (1959) zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Schalm, O.W. — Ein neuer Mastitis-Test. Tierärztl. Umschau 15, 151 (1960);

Schalm, O.W. and Woods, G. — Micrococcus pyogenes in bovine milk. Am.J.Vet.Res. 14, 530 (1953);

Schmidt, J. — Vergleichende Untersuchungen über das Hyaluronidasebildungsvermögen von Mastitisstaphylokokken und pyogenen Staphylokokken aus anderen eitrigen Prozessen. Zbl. Bakt. I Orig. 166, 353 (1956);

Seelemann, M. — Die wichtigsten ansteckenden Krankheiten des Rindes und ihre neuzeitliche Bekämpfung. Verlag der Molkerei-Käsereizeitung, Hildesheim 1951;

Slanetz, L.W., Bartley, C.H. and Allen, F.E. — The immunization of dairy cattle against staphylococcal mastitis. J.Amer.Vet.Med.Ass. 134, 155 (1959);

Smith, H.W. — Investigation on the typing of staphylococci by means of bacteriophage. J. Hyg. (Cambridge) 46, 74 (1948);

Spencer, G.R. and Lasmanis, J. — Reservoirs of infection of Micrococcus pyogenes in bovine mastitis. Amer. J. Vet. Res. 13, 500 (1952);

Steck, W.: — Die latente Infektion der Milchdrüse vom pathologisch-histologischen und milchwirtschaftlichen Standpunkt. Verlag M. und H. Schaper, Hannover 1930;

Steuer, W. — Untersuchungen über die Pigmentbildung von Micrococcus pyogenes. Zbl. Bakt. I Orig. 167, 210 (1957);

Tákács, J. und Juhász, B. — Élelmezési Ipar 1957, H. 3 - 4, zit. nach Meyer, W.: Die Staphylokokkenerkrankungen des Menschen. Joh. Ambr. Barth Verlag, Leipzig 1962;

Thörne, H. — Bovine Mastitis mit Befund von Staphalokokken im Eutersekret mit besonderer Berücksichtigung der Zusammenhänge zwischen klinischen und bakteriologischen Beobachtungen. Nord.Vet.Med. 10, 309 (1958);

Untermann, F. — Ein Beitrag zur Frage der Therapie der chronischen Staphylokokkenmastitis. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 77, 353 (1964);

Wahl, R. et Fouace, J. — A propos des techniques d'identification des staphylocoques pathogènes par les phages. Ann.Inst.Pasteur 87, 279 (1954);

Weber, E. — Die Krankheiten des Rindes. Richard Schötz-Verlag, Berlin 1937;

Wiidik, R.W. — Zur Bakteriologie der Staphylokokkenmastitis. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 67, 133 (1954);

William Smith, H. — The typing of staphylococci of animal origin by the bacteriophage method. J. Comp. Path. 58, 179 (1948);

Williams, R.E.O. and Anderson, E.S. — Bacteriophage typing of enteric pathogens and staphylococci and its use in epidemiology J. Clin. Path. 9, 115 (1955);

Williams, R.E.O. and Rippon, J.E. — Bacteriophage typing of staphylococcus aureus. J. Hyg. 50, 320 (1952);

Wilson, C.D. — Mastitis. An apparaisal of its Present-Day-Importance. Outlook of Agriculture I, 206 (1957);

Wilson, G.S. and Atkinson, J.D.

Typing of staphylococci by the bacteriophage method
Lancet (London) 1, 647 (1945);

Wohlfeil, T. und Weiland, P.

Untersuchungen über die praktische Bedeutung und Wirkungsgröße der Bakterienurease.
Zbl. Bakt. I Orig. 138, 388 (1937);

Worseck, M.

Staphylokokken als Ursache von Lebensmittelvergiftungen und eigene Untersuchungen über die Toxidität von Mastitis-Staphylokokken.
Arch. Lebensmittelhyg. 7, 145 (1956).

Abschließend möchte ich Seiner Magnifizenz Prof. Dr. Ludwig Kotter für die Überlassung der Doktorarbeit danken.

Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. Wolfram Gedek für seine freundliche Hilfe und dem Rindergesundheitsdienst in Bayern für seine Unterstützung bei der Anfertigung meiner Doktorarbeit.

LEBENSLAUF

Ich, Frank-Dieter Schultze, wurde am 25. April 1939 als viertes Kind des Facharztes Dr. Dietrich Schultze und dessen Ehefrau Edda, geborene Stadie, in Hildburghausen/Thür. geboren.

Nach dem Besuch der Grundschule von 1945 bis 1953 wurde ich Schüler der Geschwister-Scholl-Oberschule in Hildburghausen. 1957 schloß ich diese Schule mit dem Abitur ab.

Kurz darauf begab ich mich in die Bundesrepublik, um im März 1958 in Hessen die Ergänzungsprüfung zum SBZ-Abitur abzulegen.

Im Sommersemester 1958 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Tierheilkunde.

Im Januar 1965 bestand ich an derselben Universität die Tierärztliche Prüfung und erhielt im Juli des gleichen Jahres die Bestallung als Tierarzt.